

6. Zusammenfassung

In Versuchen *in vivo* (Technik des gewaschenen und vorübergehend isolierten Pansens) und *in vitro* (einfache Inkubationstechnik) wurden Untersuchungen zum Einfluß kurzkettiger Fettsäuren auf den Transport des Gesamtammoniaks ($\text{NH}_3 + \text{NH}_4^+$) an der Pansenwand des Schafes durchgeführt. Weiterhin wurden Untersuchungen *in vitro* (USSING - Technik) zur Permeabilität der Pansenwand für NH_4^+ -Ionen durchgeführt. Hierbei wurden unter Spannungsklemmbedingungen Untersuchungen zum Transport von Gesamtammoniak ($\text{NH}_3 + \text{NH}_4^+$) bei verschiedenen transepithelialen Potentialdifferenzen (± 25 oder 40 mV) vorgenommen. Unter Kurzschlußstrombedingungen wurde der Einfluß von NH_4Cl oder KCl auf die elektrophysiologischen Parameter Kurzschlußstrom (I_{SC}), Leitfähigkeit (G_t) und Potentialdifferenz (PD_t) ohne und mit vorheriger Behandlung mit Bariumchlorid (BaCl_2), Quinidinhydrochlorid, Tetraethylammoniumchlorid (TEA), Tetramethylammoniumchlorid (TMA) oder Cäsiumchlorid (CsCl) untersucht. Die wesentlichen Aussagen sind:

1. Wurden in den Versuchslösungen mukosal die kurzkettigen Fettsäuren durch Milchsäure bzw. Laktat ersetzt, verringerte sich der Transport des Gesamtammoniaks signifikant ($p < 0.01$) um 69 % *in vivo* und um 38 % *in vitro*.
2. Wurden *in vitro* Essig-, Propion- oder Buttersäure einzeln und in gleichen Konzentrationen mukosal ($30 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$) eingesetzt, waren die Disappearance aus der mukosalen Lösung ($p < 0.01$) und die Appearance ($p < 0.05$) des Gesamtammoniaks in der serosalen Lösung bei Anwesenheit von Buttersäure geringgradig höher als bei Anwesenheit von Essig- oder Propionsäure.
3. Wurde durch Einsatz gleicher Konzentrationen kurzkettiger Fettsäuren mukosal und serosal der chemische Gradient für diese aufgehoben, wurde eine Erniedrigung der Disappearance und Appearance von Gesamtammoniak um 10 % ($p < 0.01$) gegenüber einer Versuchsgruppe mit vorhandenem Fettsäuregradienten festgestellt.
4. In Versuchen zum Einfluß von individuellen kurzkettigen Fettsäuren sowie zum Einfluß eines Fettsäuregradienten auf den Gesamtammoniaktransport wurden 30 - 60 % des aus der mukosalen Pufferlösung verschwundenen Gesamtammoniaks serosal nicht wiedergefunden.

5. Die Inkubation mit $40 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ in vivo bewirkte einen Anstieg der transmuralen Potentialdifferenz (Pansenseite negativ, Blutseite positiv) um $3.5 \pm 1.0 \text{ mV}$ gegenüber einem signifikant ($p < 0.01$) höheren Anstieg um $10.7 \pm 2.1 \text{ mV}$ bei Inkubation mit $40 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ K_2SO_4 .
6. Unter Spannungsklemmbedingungen (± 25 oder 40 mV) wurde kein Zusammenhang zwischen der Höhe und Richtung der Potentialdifferenz und der Transportrate von Gesamtammoniak festgestellt.
7. Unter Kurzschlußstrombedingungen bewirkte die Inkubation mit $15 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ NH_4Cl oder KCl mukosal einen Anstieg der elektrophysiologischen Parameter I_{SC} , G_{t} und PD_{t} , wobei der durch NH_4Cl hervorgerufenen Anstieg des Kurzschlußstromes annähernd 40 % des durch die Inkubation mit KCl hervorgerufenen Anstiegs des Kurzschlußstromes entsprach. Nach Zugabe von NH_4Cl oder KCl erhöhte sich die Leitfähigkeit geringgradig.
8. Eine Beeinflussung der durch Inkubation mit NH_4Cl bzw. KCl bewirkten Veränderungen der elektrophysiologischen Parameter I_{SC} , G_{t} und PD_{t} durch Vorinkubation mit TEA, TMA (jeweils $30 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$) oder CsCl ($5 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$) wurde nicht festgestellt.
9. Der durch Inkubation mit $15 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ KCl bewirkte Anstieg des Kurzschlußstromes wurde nach Vorinkubation mit $3 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ BaCl_2 mukosal um 80 % vermindert, während der Anstieg des Kurzschlußstromes bei Einsatz von $15 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ NH_4Cl nicht durch die Vorinkubation mit BaCl_2 beeinflusst wurde. Nach Zugabe von NH_4Cl oder KCl erhöhte sich die Leitfähigkeit geringgradig.
10. Der durch Inkubation mit $15 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ NH_4Cl oder KCl bewirkte Anstieg des Kurzschlußstromes wurde nach Vorinkubation mit $1 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ Quinidin-HCl mukosal nahezu vollständig verhindert. Nach Zugabe von NH_4Cl bzw. KCl erhöhte sich die Leitfähigkeit deutlich.

Es wurde ein hypothetisches Modell über einen (luminal) zu 70 % fettsäureabhängigen Transport von Gesamtammoniak durch die Pansenwand entwickelt.

Es kann angenommen werden, daß im Epithel der Pansenwand zwei Arten von K^+ -Kanälen (Barium- bzw. Quinidin-sensitiv) vorhanden sind. Durch den Barium-sensitiven K^+ -Kanal permeieren 80 % der K^+ -Ionen, während den Quinidin-sensitiven K^+ -Kanal 20 % der K^+ -Ionen und 100 % der NH_4^+ -Ionen passieren.

Summary

Kemkowski. Jörg

Studies in vivo and in vitro on the rumen wall of sheep:

1. The effect of short chain fatty acids on the transport of total ammonia ($\text{NH}_3 + \text{NH}_4^+$).
2. Electrophysiological changes effected by ammonium ions.

Experiments in vivo (technique of the washed and temporarily isolated rumen) and in vitro (simple incubation technique) were made to study the effects of short chain fatty acids (SCFA) on the transport of total ammonia ($\text{NH}_3 + \text{NH}_4^+$) across the rumen wall.

Studies in vitro using the technique by USSING were performed to investigate the permeability of the rumen wall to NH_4^+ . Under voltage-clamp conditions different potential differences (± 25 or ± 40 mV) were used to study the influence on the transport of total ammonia. Under short-circuit current conditions the effects of NH_4Cl or KCl on short-circuit current (I_{SC}), transepithelial conductance (G_t) and transepithelial potential difference (PD_t) with or without preincubation with barium chloride (BaCl_2), quinidine hydrochloride, tetraethylammonium chloride (TEA), tetramethylammoniumchloride (TMA) or cesium chloride (CsCl) were investigated.

1. When buffer solutions were used on the mucosal side in which the short chain fatty acids were replaced by lactic acid the transport of total ammonia was diminished significantly ($p < 0.01$) to 69 % (in vivo) and 38 % (in vitro).
2. When buffer solutions were used on the mucosal side which contained identical concentrations of one individual short chain fatty acid the disappearance ($p < 0.01$) and appearance ($p < 0.05$) of total ammonia were slightly higher in the presence of butyric acid than in the presence of acetic acid or propionic acid (in vitro).
3. The disappearance and appearance of total ammonia without a chemical gradient of short chain fatty acids, by using equal concentrations of short chain fatty acids in the mucosal and serosal solution, were only slightly smaller (10 %) than in experiments with a chemical gradient of short chain fatty acids (in vitro).
4. In some experiments in vitro (effects of individual short chain fatty acid; with and without a concentration gradient of short chain fatty acids) 30 - 60 % of total ammonia which had disappeared from the mucosal solution did not appear in the serosal solution.

5. The potential difference in vivo (rumen side negative, blood side positive) increased by about 3.5 ± 1.0 mV when $40 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ were added during incubation. There was a significantly ($p < 0.01$) higher increase of the potential difference by about 10.7 ± 2.1 mV when $40 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ K_2SO_4 were used.
6. Under voltage - clamp conditions (± 25 or ± 40 mV) there was no correlation between potential difference and transport of total ammonia.
7. Under short - circuit current conditions I_{SC} , G_{t} and PD_{t} increased after adding NH_4Cl or KCl (each $15 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$) to the mucosal solution. The increase of I_{SC} after adding NH_4Cl was only 40 % of that effected by KCl . A small increase of G_{t} was observed after adding NH_4Cl or KCl .
8. The increase of I_{SC} , G_{t} and PD_{t} after adding NH_4Cl or KCl (each $15 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$) to the mucosal solution was not influenced by preincubation with TEA, TMA (each $30 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$) or CsCl ($5 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$).
9. The increase of I_{SC} when KCl ($15 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$) was added to the mucosal solution was reduced by about 80 % after preincubation with BaCl_2 ($3 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$). The increase of I_{SC} when NH_4Cl ($15 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$) was added to the mucosal solution was not influenced by preincubation with BaCl_2 ($3 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$). A small increase of G_{t} was observed after adding NH_4Cl or KCl .
10. The increase of I_{SC} , G_{t} and PD_{t} after adding NH_4Cl or KCl (each $15 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$) to the mucosal solution was almost completely prevented by preincubation with quinine hydrochloride ($1 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$). A clear increase of G_{t} was observed after adding NH_4Cl or KCl .

A hypothetical model of total ammonia transport through the rumen wall has been developed with a SCFA - dependant component of about 70 % at the luminal membrane.

The results suggested that two types of potassium channels exist in the rumen wall, one sensitive to barium and one sensitive to quinidine.

Potassium ions can permeate through these two channels using the barium - sensitive (80 %) and quinidine - sensitive (20 %) potassium channel whereas ammonium ions can pass the rumen wall through the quinidine - sensitive potassium channel (100 %).